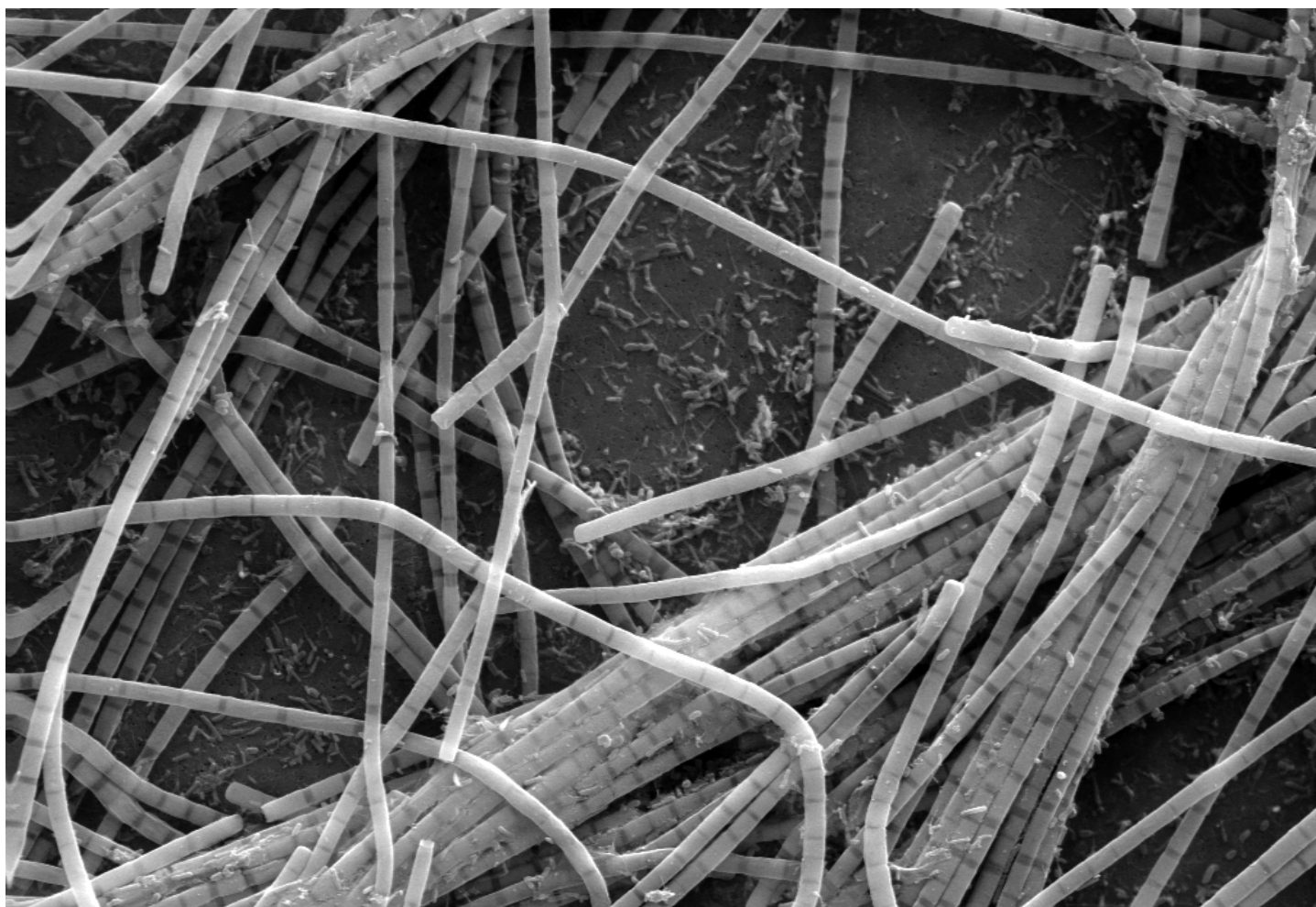




Una mirada micro i macroscòpica als ambients extrems per a la vida

Isabel Esteve

Departament de Genètica i Microbiologia de la UAB

FACULTAT DE BIOCIÈNCIES

SANT ALBERT 2015

Dedicat als meu pares i al Ramon, la Míriam i el Marc.

“Entre ells hi havia molts petitíssims animàlculs, alguns eren arrodonits mentre d’altres, una mica majors, estaven constituïts per un oval. I penso que algunes d’aquestes petites criatures eren mil vegades menors que les més petites que he vist mai.”

Antonie van Leeuwenhoek
Delft, 7 de setembre de 1674

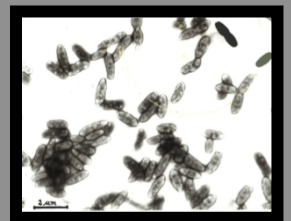
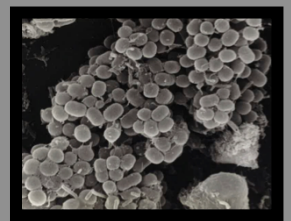
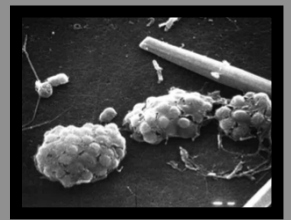
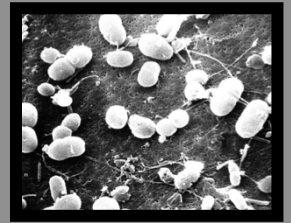
Introducció

Des que la humanitat existeix, la curiositat pels astres i per conèixer si existeix quelcom més petit que el que abasta la nostra visió ha estat un repte que s'ha mantingut fins als nostres dies. Així doncs, l'intent de fabricar lents i instruments per apropar-nos al coneixement del que tenim tan lluny i tan a prop ha estat constant. L'holandès Hans Janssen i el seu fill Zacharias inventaven, per mitjà de lents de vidre, el microscopi compost el 1590, i Galileo Galilei ideava el telescopi al 1610, encara que envoltat d'una certa polèmica sobre la primícia d'aquest instrument.

Tanmateix, va ser l'holandès Antonie van Leeuwenhoek qui, entre 1673 i 1723, va arribar a construir 400 microscopis senzills, amb els quals observà un gran nombre de mostres que el van portar a descobrir els glòbuls vermells de la sang, els espermatozoides, el món dels protists i, principalment, a fer els primers dibuixos de bacteris. Es fa difícil d'imaginar l'impacte que li degueren causar aquests descobriments en un entorn incrèdul en què no se sabia a què atribuir les malalties que s'emportaven tantes vides. Els dibuixos de totes les seves observacions, fetes amb una extraordinària precisió i que comentava amb Robert Hooke i altres membres de la recent creada Royal Society de Londres, es van conservar a la Royal Academy of Microscopy de la mateixa ciutat. No obstant això, Leeuwenhoek no va voler explicar com construïa els seus microscopis, fet que va aturar el coneixement del que havia aconseguit durant molts anys. El microscopi compost es va anar perfeccionant progressivament, però és entre els segles XIX i XX quan s'assoleix una elevada resolució en la microscòpia òptica i electrònica.

Ja ben avançat el segle XX, Frits Zernike, professor a Groningen, va idear el microscopi de contrast de fase, per la qual cosa va rebre el premi Nobel de Física el 1953. També el microscopi de fluorescència es va convertir en una eina de gran valor per a la investigació científica, atès que es basa en la propietat que tenen alguns elements químics d'absorbir la llum d'una longitud d'ona determinada i emetre'n una de més llarga.

Encara que la fluorescència que presentaven alguns fluorocroms va ser observada inicialment per Sir George Stokes l'any 1852, no va ser fins al 1957 quan Lee Marvin Minsky va inventar el microscopi confocal, similar al microscopi de fluorescència però amb una major resolució. Tanmateix, el



primer instrument comercial no va aparèixer fins al 1987.

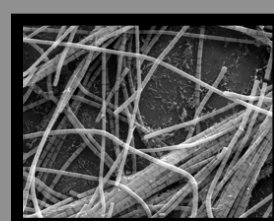
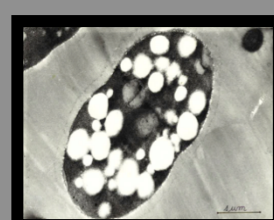
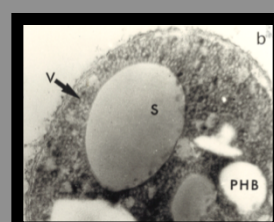
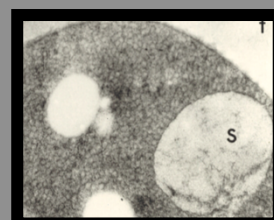
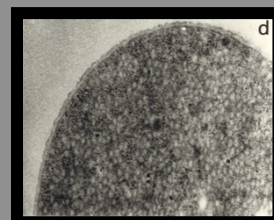
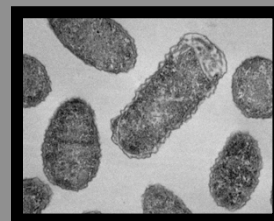
D'altra banda, Ernst Ruska, sota la tutela de Max Knoll, construïa el primer microscopi electrònic el 1932 i feia així possible l'observació de l'estructura interna de les cèl·lules, tot iniciant els grans avenços que van venir a continuació en el món de la biologia i la medicina. Ernst Ruska, Gerd Binnig i Heinrich Rohrer van rebre el premi Nobel de Física l'any 1986.

Paral·lelament, el món de la microbiologia va centrar els seus estudis en les malalties infeccioses, donat que algunes d'elles, com la tuberculosi o la sífilis, podien ser mortals. Descobrir-ne, per tant, els agents causants i el seu possible tractament van esdevenir estudis prioritaris i van ocupar les investigacions del segle XIX (el segle d'or de la microbiologia) amb l'eradicació de la teoria de la generació espontània, la consideració dels bacteris com la causa de moltes de les malalties contagioses descrites i la recerca de productes químics i antibiòtics que actuessin contra els microorganismes sense perjudicar els malalts.

No es fa estrany, doncs, que l'ecologia microbiana, és a dir, l'estudi dels microorganismes al seu ambient natural, trigués molt més a desenvolupar-se, tot i que parcialment s'haguessin aportat diversos estudis com, per exemple, el paper que tenen els microorganismes en la mineralització de les roques. La millora de la preparació de medis d'enriquiment (columna de Winogradsky) que simulessin l'ambient natural va permetre estudiar la funció essencial que tenen els microorganismes en els cicles biogeoquímics.

Han passat gairebé 60 anys des de la publicació del llibre seminal *The Microbe's Contribution to Biology* (Harvard University Press, 1956), per Albert J. Kluyver (1888–1956) i el seu antic estudiant, Cornelis B. van Niel (1897-1985). Aquest llibre va constituir l'acta fundacional de la microbiologia actual. Entre d'altres aportacions, va servir perquè poc després Roger Y. Stanier (1916-1982) i van Niel, indiquessin la distinció fonamental que existeix entre la cèl·lula procariota (principalment els bacteris) i l'eucariota (protists, llevats, animals i plantes).

També a finals de la dècada dels 1950, una jove biòloga de la Universitat de Chicago, Lynn Margulis (Chicago, 1938 – Amherst, 2011), començava els seus estudis sobre la biologia de les amebes. I pocs anys després, cap a 1967,

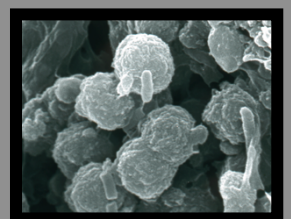
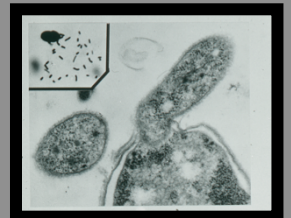
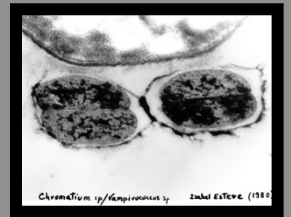
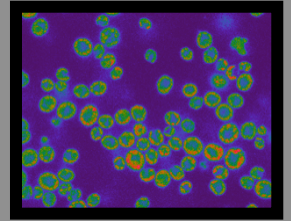
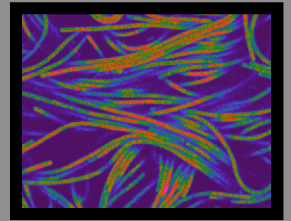


aportava una idea que seria fonamental per a la comprensió de l'estructura, origen i funcionament de la cèl·lula eucariota: que aquest tipus de cèl·lula “superior”, la “nostra”, era en realitat una quimera integrada per diferents orgànuls que havien estat prèviament cèl·lules procariotes independents. La Teoria de la Endosimbiosi Sèriada (SET, Serial Endosymbiosis Theory), era una idea revolucionària que, per descomptat, va ser rebutjada totalment per persones tan importants per a la microbiologia com l'abans citat Roger Y. Stanier. Anys després, el 1983, vaig tenir la immensa sort de treballar amb Lynn Margulis, a causa de la relació personal i científica que ella tenia amb el Prof. Ricard Guerrero, amb l'equip del qual m'havia incorporat a la UAB, i amb qui havia fet la meua tesi doctoral. De Lynn Margulis (el seu nom de naixement era Lynn Petra Alexander) sempre recordaré la seva manera d'entendre la ciència, la seva generositat i la gran capacitat que tenia per entusiasmar els seus col·legues i amics.

Per aquella època de principis de la dècada de 1980, altres dues grans fites van centrar l'interès en els bacteris i el seu entorn. En primer lloc, el descobriment de bacteris fossilitzats a l'interior de roques calcàries (conegudes com estromatòlits), que van permetre veure que la vida sobre la Terra era molt més antiga del que es pensava. I, en segon lloc, el descobriment per part de Carl R. Woese (1928-2012) qui, tot emprant com a marcador el 16S rRNA, va dividir els éssers vius en tres dominis: Bacteria, Archaea i Eukarya. L'interès del seu descobriment es va centrar en un principi en què va revolucionar la taxonomia bacteriana i va permetre obtenir dades sobre la distància evolutiva entre microorganismes. A més a més, el que també va aportar va ser la demostració que la majoria de les Archaea habitaven ambients molt extrems per a la vida. Aquesta dada va motivar l'estudi, durant els anys següents i fins a l'actualitat, d'aquests ecosistemes i dels microorganismes extremòfils que hi habiten, fet que va revolucionar molts dels conceptes prèviament establerts. Des de fa anys, aquests ambients s'estan utilitzant com a model per explicar la vida primigènia a la Terra i la possible recerca de vida en altres planetes.

Paper de la microscòpia en l'estudi dels ecosistemes extrems per a la vida

Actualment es coneix que la vida al nostre planeta es va originar fa més de 3500 milions d'anys i que aquesta va ser, sens dubte, procariòtica. Així amb tot, el fet que els bacteris no es fossilitzin va deixar una pàgina en blanc de més de

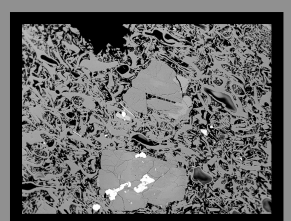
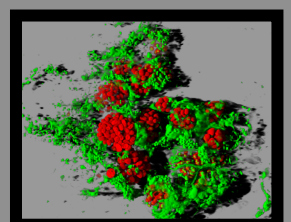
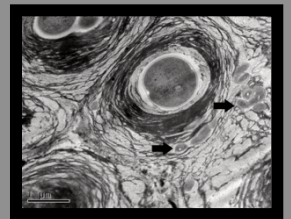
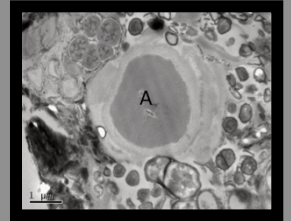
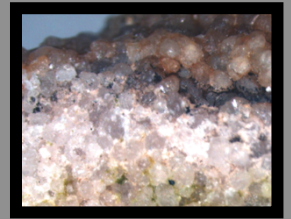


2000 milions d'anys en la història d'aquests microorganismes que, no obstant, havien dominat la Terra. No va ser fins l'any 1993 que J. W. Schopf va descobrir microfòssils a l'interior de roques calcàries, considerades entre les més antigues de la Terra (estromatòlits). Aquests microfòssils presentaven unes estructures filamentoses similars als bacteris fotòtrofs actuals. El 1956, Clair Patterson, al laboratori de Harold Urey, a la Universitat de Chicago, mitjançant l'ús de $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ va datar l'origen de la Terra en 4550 ± 70 milions d'anys.

En l'actualitat, els tapissos microbians, àmpliament distribuïts al llarg de tot el planeta, s'han considerat com a rèpliques vives dels estromatòlits. Són estructures laminades formades per múltiples capes de microorganismes de diferents coloracions i que formen un complex sistema d'interrelacions on hi cohabituen microorganismes fotòtrofs oxi i anoxigènics amb microorganismes quimiolitòtrofs i organòtrofs que duen a terme la respiració aeròbica i anaeròbica, emprant diferents fonts d'energia i d'acceptors d'electrons [1][2]. Els tapissos microbians colonitzen tant ambients salins i hipersalins com termòfils i psicròfils. És per això que s'utilitzen en estudis d'astrobiologia, tot relacionant les condicions de vida d'aquests microorganismes amb les que poden donar-se en d'altres planetes. A més a més, l'estudi de la fossilització d'aquests ecosistemes de manera similar com ho han pogut fer en el passat els estromatòlits ha afavorit la comprensió de les diferents possibilitats amb les que es pot explicar l'origen de la vida sobre la Terra.

En tots aquests estudis, les tècniques microscòpiques i, en especial, la microscòpia làser confocal (CLSM) i l'electrònica tant de rastreig com de transmissió, s'han utilitzat (preferentment aquesta última) mitjançant la realització de talls ultrafins per tal d'analitzar la ultraestructura de les cèl·lules que componen les diferents capes de microorganismes. Com a exemple, algunes de les aplicacions més rellevants han estat: l'aportació de dades per a la taxonomia dels microorganismes i l'estudi de les relacions entre metabolisme i ultraestructura (Fig. 1) [3].

Tal i com s'ha esmentat, la CLSM ha tingut també un paper molt important en els estudis d'ecologia microbiana, principalment en el dels tapissos microbians. En aquests hàbitats, els microorganismes fotòtrofs constitueixen les poblacions dominants. La possibilitat d'estudiar aquestes poblacions per mitjà de seccions



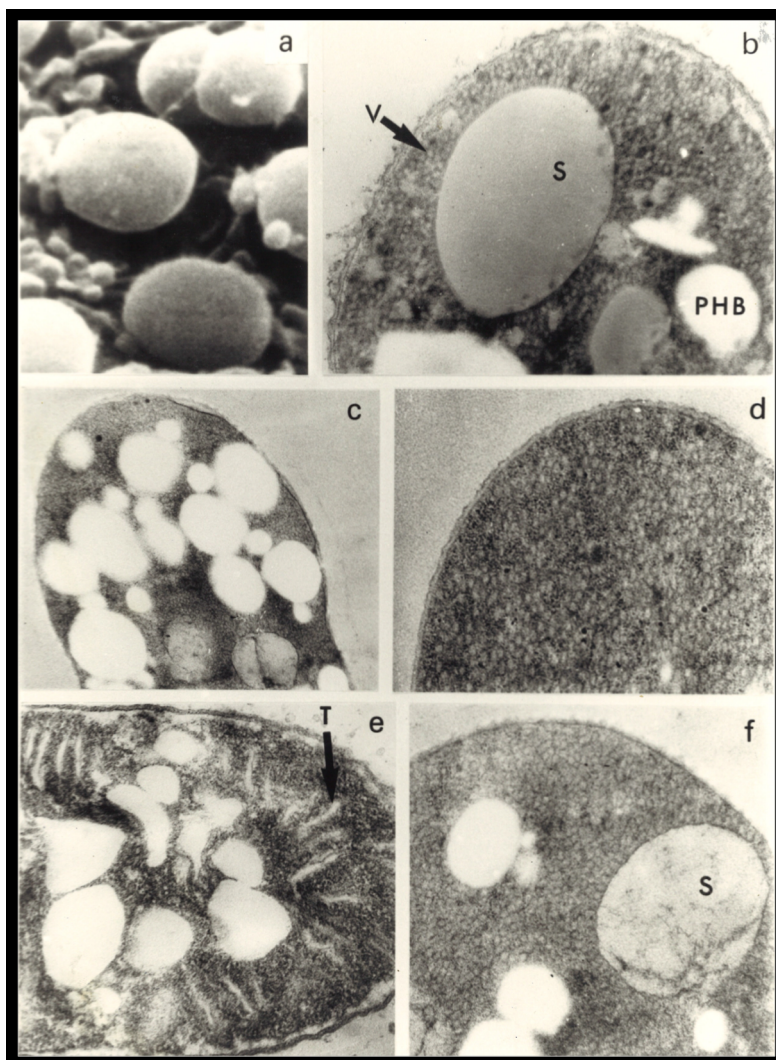


Figura 1: Esteve et al. (1990), A quantitative ultrastructural study of *Chromatium minus* in the bacterial layer of Lake Cisó (Spain). Arch. Microbiol. 153:316-323.

òptiques i no ultrafines, *in vivo*, a nivell cel·lular i a una escala micromètrica, ha fet que múltiples estudis que s'han anat desenvolupant al llarg dels últims anys i també en el nostre laboratori d'ecologia microbiana s'hagin realitzat amb aquesta tècnica microscòpica. En el nostre cas, i mitjançant l'aplicació del software ImageJ, hem pogut correlacionar diferents variables fisicoquímiques amb la distribució espaciotemporal de les diverses poblacions a escala micromètrica, fet que no s'havia pogut dur a terme anteriorment amb el mateix grau de precisió [4]. També hem estudiat mitjançant el CLSM acoblat a un espectrofluorímetre, i fixant com a marcador la clorofil·la, la resistència a diferents metalls de diversos microorganismes aïllats de l'ambient natural. Aquesta última tècnica, combinada amb l'observació d'imatges obtingudes per microscòpia electrònica de rastreig i especialment de transmissió, acoblades respectivament a un sistema d'anàlisi per difracció de Raigs X, ha permès determinar la captació intracel·lular de metalls (Fig. 2) [5][6][7].

